

花粉分析法に関する若干の検討

新 田 義 信

花粉分析におけるサンプリングの検討をおこなうため、凍結法により遠心分離管内の花
粉化石の層化について調べた。その結果、比較的大きな花粉は下層に多く沈積し、小型の
花粉は上層に多く沈積していることが明らかになった。

花粉分析をおこなう場合の標本の大きさについて検討した。一般に 200 個カウントがお
こなわれているが、推計学的計算から信頼度 95%, 60% の場合の標本の大きさを求め
た。

1 はじめに

地質の研究において、花粉分析や珪藻化石の分析のようにミクロな方法を駆使しての研究がますます
重要になってきている。特に少量のサンプリングによって分析をおこなう場合、所定の標本調査法にし
たがってなされなければ、得られた結果はあいまいなものとなってしまいます。さらに母集団を推定するか
らには、推定した値がどのような信頼度を持ち、どのくらいの許容誤差範囲内で確からしいのか、とい
う意味をもった値でないと価値がない。筆者は花粉分析について、前述の観点から検討を加え若干の知
見を得たのでここにまとめたい。

2 遠心分離のときにできる花粉化石の層化現象

花粉分析では、試料をプレパラートに封入するまでに数次にわたるサンプリングがおこなわれる。た
とえば、第 1 次：露頭から直接試料を採取するとき。第 2 次：室内に持ちこんだ原試料から四分法で縮
量して化学処理をおこなうとき。第 3 次：化学処理が完了した試料からプレパラートに封入するとき。
第 4 次：検鏡するとき。このように幾度かにわたるサンプリングのうち、ここでは前述の第 3 次のサン
プリングのときにおきる問題の検討をおこなった。

(1) 遠心分離管からのサンプリングの問題

花粉化石分離のための化学処理が完了すると、手廻わし遠心分離機で遠心分離をおこない砂や粘土と
花粉化石を分離する。次に、上部に分離されたと思われる花粉化石を少量サンプリングして、プレパ
ラートに封入する。もし、仮に遠心分離管に沈積している花粉化石がランダムになっていなければ、そこ
からサンプリングした試料より母集団を推定することは不可能である。そこで、さしあたって遠心分離
管内で花粉化石がどのように沈積しているか調べる必要がある。そのために次のような実験をした。

(2) 凍結法による実験と観察

実験にもちいた試料は、南浦原郡小須戸町矢代田駅前の露頭^{注1), 1)}から得た。約 500g の原試料をランダムに

注 1) 矢代田層に不整合に接する蒲ヶ沢層の露頭。花粉化石を豊富に埋積している泥炭質砂層である。

するためよくかくはんし、四分法によってさらに10gに縮量した。試料から花粉化石を分離するための化学処理は、次のような方法にしたがった。

HF(47%) → 水洗 → KOH(10%) → 水洗 → 氷酢酸 → 水洗
→ 無水酢酸9 + 濃硫酸1 → 水洗 → 氷酢酸 → 水洗

1) 試料の固定

化学処理の過程を経た試料は、手廻し遠心分離機でゆるく沈殿させ上澄液を捨てた。このゆるく沈殿した試料をみださない状態で観察するためにそのまま凍結する方法をとった。試料の上面から約1cm上澄液を残し、(図1)のように装置し低温ストッカー内で凍結した。

(図1-A)のようなふたをしないと、中心部分の試料が浮きあがる(冷凍をしているとき、遠沈管壁面近くと中心部では凍結のされかたに差を生じ、外部から内部に圧力が加わり上部に押しあげられるものと考えられる)。凍結後、遠心分離管をしばらく外気にさらし(図1-A)の棒ごと引きぬくと凍結された試料を取りだすことができた。さらに試料の最上面を熱した細いニクロム線(200W)で切断した。ニクロム線で切り取った試料をさかさまにして、ピンセットではさみプレパラートに押印するようになしかたで順次付着させた。このとき、花粉化石は上層からいっしょにとりだされることになる。

本実験にもちいた試料は(図1-B)に示したように厚さ16.8mmであった。このうち試料上面から深さ12.4mmまでの試料を115枚のプレパラートに付着させた。したがって、プレパラート1枚あたりの試料の厚さは平均0.1mmに相当する。マウントしたプレパラートのうち、(図1-B)に示した12枚について観察した。

2) 観察結果

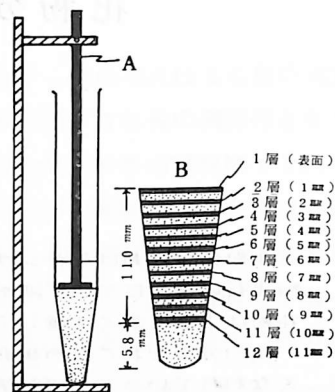
観察は、プレパラートをメカニカル・ステージで一定に走行させ、倍率600倍で検鏡し出現した順に100個調べた。検鏡の途中、不明の花粉化石や判断に迷う化石は対象としないで、分類可能な化石だけをカウントした。また、同時に主要な花粉化石の大きさを測定した。

花粉化石の分析結果は(図2)に示したとおりであった。試料上層部では *Alnus* (ハンノキ属), *Quercus* (コナラ属) や *Gramineae* (イネ科) などが多く沈積しており、しだいに下層になるにしたがい少なくなっている。いっぽう, *Pinus* (マツ属), *Fagus* (ブナ属), *Persicaria* (タデ属) や *Juglandaceae* (クルミ科) は、下層になるにしたがい高い比率で沈積している。*Carpinus* (クマシデ属) や *Compositae* (キク科) は、上層から下層にかけて平均して沈積している。

12層全体の各花粉化石出現率の平均は(表1)のA欄に示したとおりである。露頭から採取してきた残りの原試料からランダムになるように操作して作ったプレパラートの分析結果(カウント数500個)はB欄に示した。

3) 考察

花粉化石は、遠心分離管の中で層化して沈積していることは明らかである。しかも、大型の花粉化石



(図1) 層化現象を調べるための装置と調べた層の深さ

ほど下層に沈積し、小型の花粉化石は上層部に沈積している。これは遠心分離のとき花粉の大きさにより沈降する速さが違って来るものと考えられる。したがって、ここから直接サンプリングして封入することは危険である。

層化現象の認められた12層全体をとおしての平均出現率は、同一原試料からランダムにサンプリングした結果と比較してほぼ同一のような値となっている。しかし、*Pinus* がやや低率となり、*Alnus* や *Quercus* がわずかながら高率となっているのは、遠心分離管内の最下層の試料まで観察していないため、小型の花粉化石が比較的高率となってあらわれたものと考ええる。

花粉化石の大きさを調べた結果では、上層部に沈積している *Quercus* が $25\mu\sim 27.5\mu$ 、*Alnus* が $25\mu\sim 30\mu$ 、*Gramineae* が $37.5\mu\sim 42.5\mu$ の大きさが大部分を占

(表1) 花粉種組成

花 粉	A	B
	全2層 の平均	ランダム の場合
<i>Pinus</i>	19.1	26.0
<i>Abies</i>	0.4	
<i>Tsuga</i>	0.3	1.4
<i>Cryptomeria</i>		0.4
<i>Fagus</i>	9.6	9.2
<i>Alnus</i>	16.1	15.8
<i>Quercus</i>	14.2	10.0
<i>Ulmaceae</i>	0.3	0.2
<i>Betula</i>	0.2	
<i>Carpinus</i>	4.1	2.4
<i>Salix</i>		0.2
<i>Corylus</i>		0.8
<i>Tilia</i>	0.2	0.2
<i>Juglandaceae</i>	6.6	4.8
<i>Gramineae</i>	18.7	20.2
<i>Compositae</i>	2.5	2.0
<i>Persicaria</i>	6.8	3.8
<i>Trapa</i>		0.4

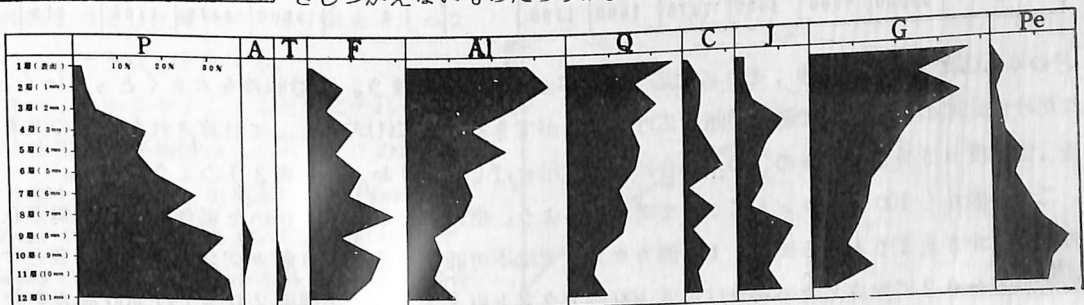
めていた。下層部に沈積している *Pinus* は $50\mu\sim 75\mu$ 、*Fagus* が $40\mu\sim 45\mu$ 、*Juglandaceae* が $42.5\mu\sim 45\mu$ 、*Persicaria* では $42.5\mu\sim 50\mu$ の大きさが大部分を占めていた。このことから、大型の花粉化石は一般に下層部に、小型の花粉化石は上層部にそれぞれ層化して沈積していることが、大きさの測定からもうらづけられた。しかし、*Gramineae* はやや大きめの花粉であるが上層部に多いのはいささか矛盾するが、おそらく比重が小さいためと考えられる。

3 花粉化石カウント数の大きさについて

(1) 花粉化石カウント数の大きさの問題

微化石の種分析や重鉍物分析では各種類の出現頻度推定のために200個以上を読み取る、いわゆる200個カウントをおこなっているのが普通である。²⁾³⁾ これは、Barkley⁴⁾ の統計学的な研究にもとづいて計算された200個読み取りが一般化しているものと思われる。

しかし200個カウントをもとにして、それぞれの種の出現率を考察してさしつかえないものだろうか。また、たとえ200個カウントでじゅうぶん



(図2) 花粉種分析結果

P : *Pinus* A : *Abies* T : *Tsuga* F : *Fagus* Al : *Alnus* Q : *Quercus*
C : *Carpinus* J : *Juglandaceae* G : *Gramineae* Pe : *Persicaria*

であると仮定したとしても、その百分率が示す数値はどのくらいの許容誤差範囲内と推定しているものか、というようにいくつかの問題がある。200個カウントをなんとなくもちいているがどのような意味をもつものだろうか。

Faegri と Ottestad は統計学にもとづいて、Barkley とは異なるカウント数を計算している。⁵⁾ 筆者は、同様の計算をおこない 95%信頼度と 60%信頼度の場合について求めた。以下それらについて述べてみたい。

(2) カウント数の決定について

推計学による標本調査では、有限母集団におけるある特性をもつものの比率を推定する場合、近似的に次の式によって求めることができる。^{6), 7), 8)}

$$n = \frac{k_{\alpha}^2 P(1-P)}{d^2} \quad \dots\dots\dots (1)$$

ここで、 n は標本の大きさ、 k_{α} は信頼度 95% のときはおよそ 2、信頼度 60% のときはおよそ 1、 P はある特性をもつものの比率、 d は許容限界誤差である。

すなわち、実験計画をたてるとき信頼度、ある特性をもつものの比率、相対誤差などをあらかじめ設定しておけば、それに対応する標本の大きさを計算できる。言いかえると、標本の大きさは信頼度、相対誤差と出現するものの比率によっていくらでも変わってくる。次に、一般におこなわれている 200 個カウントの場合について考えてみよう。このように頭から標本の大きさが決まっていると、相対誤差を

(表2) 信頼度 95% の標本の大きさ

相対誤差 比率	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
50 (%)	400	100	44	25	16	12
20	1600	400	178	100	64	45
10	3600	900	400	225	144	100
5	7600	1900	844	475	300	212
2	19600	4900	2178	1225	780	545
1	39600	9900	4900	2475	1600	1100

(表3) 信頼度 60% の標本の大きさ

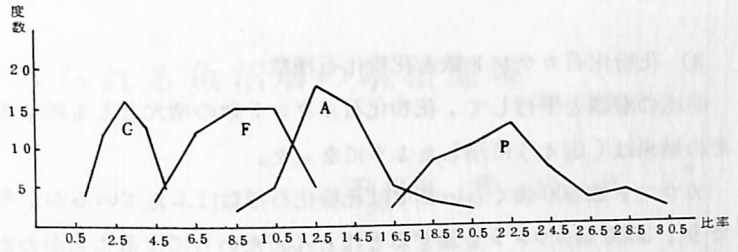
相対誤差 比率	0.1	0.2	0.3	0.4
50 (%)	100	25	12	7
20	400	100	45	25
10	900	225	100	57
5	1900	475	212	119
2	4900	1225	545	307
1	9900	2475	1100	619

どのくらいにおくかにより、それに対応する比率が決まってしまう。相対誤差を大きくとっていくとそれだけ低比率の推定にまで適用範囲を広げることができる。次に(1)式によって計算された標本の大きさを、信頼度 95% と 60% の二つの場合について示せば(表2)および(表3)のようになる。

二つの表から 100 個カウントについて考えてみよう。信頼度を 95% においた場合は、相対誤差 0.1 の範囲におさえようとするには、100 個カウントでは不可能である。400 個カウント以上を必要とする。相対誤差を 0.2 におさえたい場合は最低 100 個カウント以上である。出現率 20% では 400 個カウントを必要とする。信頼度 60% においた場合も同様に考えればよい。

以上のことから、微化石や重鉍物分析などでおこなわれている出現頻度推定のための読み取りカウント数、すなわち標本の大きさは設定した信頼度、相対誤差(目標精度)やどの程度の比率まで推定する

かによっていろいろ変わるものである。しかし、研究のための時間、労力や経費、あるいは地質調査中に入りうる誤差などから 200 個カウントですませたいとするならば、この分析から得られたデータは、信頼度 60 %、相対誤差 0.3 の範囲ならば、およそ 5 % 以上の比率について自信をもって推定できる。



(図3) 200 個カウントを 50 回おこなった度数分布

C : Compositae F : *Fagus* A : *Alnus* P : *Pinus*

(3) 200 個カウントの実際

1) 試料の処理

実験に使用した試料は、層化現象を調べた試料と同一のものを四分法で 50 g に縮量して使用した。花粉化石を分離するための化学処理は、層化現象を調べたときと同一の方法でおこなった。次に、ランダムになるように操作しながら 4 本の速心分離管に分配し、それぞれの管にグリセリンゼリーを注入しランダムになるようによくかくはんした。4 本に分配された試料全部を 117 枚のプレパラートに封入し、名義尺度によりさらに 50 枚のプレパラートをランダムに抽出した。各プレパラートからの花粉化石 200 個の抽出は、メカニカル・ステージを一定に走行させ視野中でとらえられた順にカウントし、これを標本とした。

2) 観察の結果と考察

出現した花粉化石種の比率は、それぞれ 200 個を母数とした百分率であらわした。なお、同定できなかった花粉化石や孢子化石はカウントせず除外した。観察した結果、主要な花粉化石の出現率を度数分布であらわすと (図 3) のようになった。また、200 個カウントを 50 回くりかえした出現率の平均値は (表 4) のようになった。

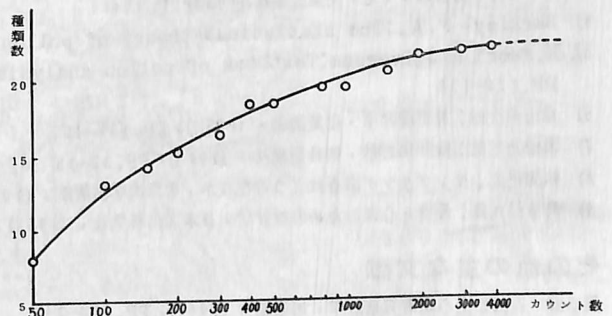
(表4) 花粉化石の平均出現率

<i>Pinus</i>	<i>Alnus</i>	<i>Fagus</i>	Compositae	その他
22.6 %	14.1 %	8.9 %	3.3 %	51.1 %

主要花粉化石出現率の度数分布をみると、かなりのバラツキがあることがわかる。たとえば、*Pinus* の最大出現率と最小出現率の信頼幅を求めると、3.0 % (±6.2 %) ~ 16 % (±5.2 %) となりこの信頼幅を考慮した最大値と最小値を考えると、

ならばいっそうはきりする。

また、わかりやすくするためにそれぞれの平均出現率で平均値からのバラツキの最大の差を除いてみると、出現率の高い *Pinus* や *Alnus* よりも出現率の低い Compositae や *Fagus* の方が大きい。すなわち、低率の場合にはそれだけ誤差が大きいたうかがわれ、カウント数を大きくしなければならないことが推定される。



(図4) 花粉化石カウント数と花粉化石種数の関係

3) 花粉化石カウント数と花粉化石種数

前述の観察と平行して、花粉化石カウント数の増大とともに、出現する花粉化石種数の関係を調べた。その結果は(図4)に示したようになった。

カウント数500個くらいまでは花粉化石種数はふえているが、それ以後しだいに出現の仕方が少なくなり、3000個カウントを過ぎるとほとんどたいらになることがわかった。したがって、出現する花粉化石種を調べるには、この場合3000個程度カウントする必要がある。

4 おわりに

地質の研究におけるいろいろな種分析では、何次かにわたるサンプリングのときに生ずる偏倚の混入が、精度に一番ひびいてくるものと思われる。したがって分析をおこなう場合、実験計画を綿密にたて途中の操作に偏倚が生ずることをできるだけ防ぐようにくふうし、そのような習慣づけをすることが重要であろう。また、遠心分離管内での花粉化石の層化現象は予想以上の結果で驚くべきことであった。遠心分離管からプレパラートにマウントするときは、ランダムになるように細心の注意を払う必要がある。

花粉化石カウント数は幾つ以上でなければならないということではなく、得たデータはどのような許容範囲のデータであるかという認識が重要かと思う。時間、労力の面で現実にカウント数をあげることはむずかしいし、カウント数をあげればかえって誤差を大きくすることもありうる。分析をおこなうにあたって、そのねらいなどから、カウント数をきめるべきだろう。

以上、花粉化石の分析法に関して若干の検討を加えてきたが、まだまだ検討をおこなうに興味のある問題がいくつかある。これらについてもひき続き調べていきたい。

終りにあたり、標本調査について多くのご教示をいただいた新潟大学教育学部斎藤国夫先生に心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) 新田義信：県立教育センター研究集録，第2集，理科研究編(2)，(1969)，PP.105—106
- 2) 中村 純：花粉分析，古今書院，(1967) PP.100—102
- 3) 徳永重元：花粉のゆくえ，実業公報社，(1963) P.126
- 4) Barkley, F.A.: The statistical theory of pollen analysis, Ecol. 15, (1934), P.238
- 5) K. Faeri & J. Iversen: Textbook of pollen analysis, Ejnar munskegaard, Denmark, (1964), PP.124—128
- 6) 青山博次郎：教育統計学，産業図書，(1957)，PP.152—157
- 7) 増山元三郎：推計学の話，朝日新聞社，(1949)，PP.32—35
- 8) 林知巳夫：サンプリング調査はどう行なうか，東京大学出版部，(1951)，PP.54—72
- 9) 岩原信九郎：教育と心理のための推計学，日本文化科学社，(1957)，PP.160—161

その他の主な文献

- 肥田野 直ほか：心理教育統計学，培風館，(1961)，PP.242—247
 沼田 真編：植物生態学〔1〕，古今書院，(1959)，PP.60—97